



التطعيم باستعمال طعوم الغشاء الامنيوسي كاسلوب جديد في معالجة العيوب الظهارية المستديمة

د. رنا محمد سعيد عمران¹، د. رزق الله نايف رزق²، ب. محمد عمار حسن العدوي³
د. براء محمد رضوان قبيسي⁴،* د. محفوظ مصطفى البشير⁵

¹ مديرة مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق

² طبيب مختص في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق

³ عضو هيئة فنية في هيئة الطاقة الذرية

⁴ طبيب مختص في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق

* مدير بحوث في قسم تكنولوجيا الاشعاع، هيئة الطاقة الذرية السورية، ويراسل على البريد دمشق، ب. و. صندوق بريد 6091 E-mail:

scientific@aec.org.sy

الخلاصة

تستعمل طعوم الغشاء الامنيوسي البشري (HAM) في معالجة العديد من الاعتلالات التي تصيب السطح الخارجي للعين، من خلال الاستفادة من الخصائص الفعالة التي تتمتع فيها هذه الاغشية، وكان الهدف من هذه الدراسة اختبار تأثير الغشاء الامنيوسي البشري الجاف المنتج محليا في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية بمسمى الامنيوغرافت في معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير قابلة للشفاء Non-healing persistent epithelial defects (NH, PEDs). وتم انجاز العمل في هذه الدراسة على ثلاث حالات اصابة بعيوب ظهارية مستديمة وغير قابلة للشفاء في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق، بعد ان تم اجراء الاختبارات السريرية العينية للمرضى وتحديد درجة التضرر الظهاري في قرنية العين، حيث بينت نتائج هذه الاختبارات اصابة المرضى الثلاث بعيوب ظهارية مستديمة بالرغم من العلاج الذي تم اخضاعهم له والذي استمر لفترة زمنية طويلة، وعليه فقد تقرر تنفيذ التطعيم بالامنيوغرافت. نفذ العمل الجراحي بتغطية كامل الجزء المصاب من سطح العين بعدة طبقات من الامنيوغرافت. اشارت نتائج الاختبارات السريرية، ونتائج تتبّع تطور الوضع الصحي للمصاب، الى وجود تحسن ملحوظ في الحالة الصحية للمرضى الثلاث بدلالة المؤشرات المدروسة والمتمثلة في تراجع مساحة الجزء المصاب بعد مرور اسبوع على العلاج، والمثول الى الشفاء التام بعد مرور شهر على تطبيق طعوم الامنيوغرافت، مع عدم ملاحظة اي انتكاس أو تدهور في الحالة الصحي للمرضى الثلاث خلال فترة المتابعة التي استمرت لثلاث أشهر بعد العلاج. وعليه يمكن الاستنتاج بإمكانية استعمال الامنيوغرافت في معالجة الاعتلالات المستديمة وغير القابلة للشفاء والتي خضعت لمعالجات تقليدية خلال فترات زمنية طويلة.

الكلمات المفتاح: العيوب الظهارية المستديمة، الامنيوغرافت، معالجة طويلة الامد.

Amniotic Membrane Transplantation as a Treatment for Persistent Corneal Defects

Rana Mohamad Said Omran¹, Rizkallah Nayef Rizk², Mohammed Ammar Hassan Al-Adawi³, Buraah Redwan Kubaisi⁴, Mahfouz Mustafa Al-Bachir*⁵

¹ Director of the Surgical Eye Hospital in Damascus

² Specialist doctor in the Surgical Eye Hospital in Damascus

³ Member of the Technical Board in the Atomic Energy Commission

⁴ Specialist doctor in the Surgical Eye Hospital in Damascus

*⁵ Research Director in the Radiation Technology Department, the Syrian Atomic Energy Commission, and corresponds by mail Damascus, B.W., P.O. Box 6091 E-mail: ascientific9@aec.org.sy

Abstract

The use of human amniotic membrane (HAM) has been suggested to manage various ocular surface diseases for its effective properties. The aim of this study was to investigate the effect of dried AmniGraft as Syrian product transplantation (DAG-SY-T) for Non-healing, persistent epithelial defects (NH-PED). The study included 3 patients that were assigned to DAG-SY-T in Damascus Eye Surgical Hospital, The patients underwent a comprehensive ocular examination, visual acuity, epithelial defect; The main outcome measures were healing response of PED after longstanding ocular surgeries, and time to heal after application of DAG-SY-T. Visual acuity improved significantly in all patients after DAG-SY-T treatment. One week later the defect was reduced. During the 3 months follow-up, no recurrence was observed. DAG-SY-T can be easily applied in the clinical setting and has demonstrated its efficiency as a new tool to treat PEDs after longstanding ocular surgeries.

Key words: Persistent epithelial defects, Amnio Graft, longstanding ocular surgeries

المقدمة Introduction

تعد الاعتلالات العينية بما في ذلك الاصابات والعيوب والاضرار التي تصيب القرنية، حسب معطيات منظمة الصحة العالمية World health organization (WHO) احد الاسباب التي قد ينتج عنها حدوث قصر في النظر، وانخفاض في حدة الرؤية Visual acuity، ويصل في بعض الاحيان الى فقد البصر Blindness [1]. وتتسبب عيوب واضرار القرنية بفقد البصر عند عدد يتراوح بين 1.5 و 2.0 مليون شخص سنويا [2]. وتحدث العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء Non-healing, persistent epithelial defects (NH-PEDs) عند الفشل في اعادة تشكل الظهارة Re-epithelialization بعد مرور زمن طويل على المعالجة النظامية التي تستمر عادة لمدة تتراوح بين 10 و 14 يوما [3]. وتصنف العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء كحالة نادرة Rare condition نسبيا عند المقارنة مع بقية الحالات الاخرى المألوفة ويقدر عدد المصابين في هذه الحالة النادرة في بلد كالولايات المتحدة الامريكية بأقل من 200.000 اصابة في العام [4]. تعد معالجة حالات الاصابة بالعيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء من التحديات التي تواجه المختصين في هذا المجال باعتبارها من الحالات التي تحتاج الى مراقبة دقيقة ومتابعة طويلة [5].

يطبق عالميا عدة وسائل علاجية غير جراحية Non-surgical modalities في التعامل مع العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء بما في ذلك استعمال العدسات اللاصقة Contact lens، وتحسين السطح الخارجي للعين Optimization of ocular surface، والتدعم الاصطناعي Artificial tears، والاعلاق المحكم للعين Punctaloccludes، وترقيع العين Eye patching، واستعمال الشبكات الموضية الصلبة

Tarsorrhaphy sclera contact lenses، واستعمال

السينيجيرمين Cengermin [6].

تعد خيارات المعالجة الجراحية بما في ذلك استعمال الغشاء الامنيوسي البشري Human amniotic membrane (HAM) وزرع الخلايا الجذعية القرنية Corneal stem cell transplantat من الخيارات الحديثة والفعالة المتداولة في معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء [7]. يتمتع الغشاء الامنيوسي البشري ببنية شبه شفافة Semi-transparent، والغشاء الامنيوسي هو الكيس الذي يحيط بالجنين، ويعد جزء من المشيمة Placenta، ويتوضع في جزئها الداخلي وتترواح سماكته بين 0.02 و 0.05 مم [8]. ويتكون الغشاء الامنيوسي من طبقة احادية من الخلايا الظهارية Epithelial cells ملتصقة بغشاء قاعدي Basement membrane مكون من خلايا ميزاشيمية Mesenchyme cells [9]. يشار في الادبيات العلمية العالمية الى الفوائد الطبية لاستعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري، وامكانية الاستفادة من الخصائص التي يتمتع فيها بنجاح في معالجة العديد من الاعتلالات والاصابات الطبية [10]. تم البدء باستعمال الغشاء الامنيوسي البشري عالميا في معالجة الاصابات العينية لأول مرة في عام 1940، وتتوارد الاخبار في الادبيات العلمية، منذ ذلك التاريخ حول استعمال هذا المنتج والمستحضر المفيد في معالجة الاعتلالات والاصابات العينة المختلفة [11]. ويتوفر في الادبيات العلمية العديد من التقارير التي وثقت اختبار امكانية استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري في معالجة الاعتلالات التي تصيب السطح الخارجي للعين [5,12].

وفي يومنا هذا فقد تم اعتماد استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري كاسلوب جديد في معالجة الاعتلالات العينية المختلفة بما في ذلك معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء [13-15]. وأشارت نتائج

الجزء المرتبط بعلاج الحالات موضوع الدراسة، كما تم اجراء الفحوص الاعتيادية الخاصة بالحالة الصحية للعين.

البيان الاخلاقي Ethics statement

طبق في هذه الدراسة بيان معتمد كاجراء من قبل لجنة اخلاقيات البحث العلمي في هيئة الطاقة الذرية السورية، وتم الحصول على موافقة من قبل كل مريض مشارك في هذه الدراسة قبل المباشرة بالتنفيذ. وتم تنفيذ هذه الدراسة وفقا لما ورد في الدليل المقترح في تصريح هلسنكي الصادر عن الاتحاد الطبي العالمي Helsinki declaration of the world medical association، وتم الحصول على تصريح خطي من المريض، بعد استكمال وصف الحالة وتحديد الية التدخل وتثبيت الهدف من هذه الدراسة.

الاختبارات المنفذة Examinations

اجريت مجموعة من الاختبارات السريرية العينية والمتضمنة تحديد حدة البصر Visual acuity، وانجز اختبار المصباح الشقي Slit lamp examination لتحديد درجة تضرر ظهارة القرنية Corneal epithelial defect ببعدين وبمقياس ميلي متري مثبت على المصباح الشقي، وتم تنفيذ اختبار تحديد نقص التروية Limbal ischemia، وحالة الملتحمة Conjunctival involment من حيث وجود تحلل ونخر موضعي Necrosis، او وجود ترسبات جيرية Lime deposits، وتم تقييم الغيلم الناتج عن الصمغ Tear film assessment باختبار شيرمر Schirmer test مع التخدير With anesthesia وبدون تخدير، ونفذ اختبار قعر العين Fundus وانجاز كافة الاختبارات الممكنة والمتاحة في المشفى. وتم تقدير مساحة الجزء المصاب بالتقرح ودرجة الارتشاح infiltration وعمقه. وتم تنفيذ الحقن Syringing، وقياس ضغط العين رقميا Digital tonometry، وتم اخذ خزعة قرنية Corneal scrapings من عمق وحواف منطقة التقرح، وتم اعتماد

الاختبارات السريرية المنفذة في العديد من الدراسات العلمية الى ان نسبة نجاح معالجة الاعتلالات العينية باستعمال زروعات من طعوم الغشاء الامنيوسي البشري قد وصلت الى مستوى شفاء تجاوز الـ 76% من مجمل الحالات المعالجة [16]. وبالرغم من ذلك فقد بقي موضوع استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي في معالجة الاعتلالات العينية المختلفة، ووضع اجراءات علاجية لهذا الاستعمال قيد البحث والتمحيص [1]. وعليه فان هذه الدراسة هي الاولى من نوعها في اختبار كفاءة، وسلامة استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري المحضر محليا بسمى الامنيوغرافت في معالجة الاعتلالات العينية، وهدفت هذه الدراسة الى اختبار الفاعلية الطبية لاستعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري المحضر محليا بسمى (الامنيوغرافت) والمعقم باشعة غاما في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، في التثام العيوب لظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء حتى بعد استعمال معالجات جراحية لفترات زمنية طويلة في سورية.

المواد وطريقة العمل Materials and Methods

Methods

تصميم الدراسة واختيار المرضى Study design and patients selection

صممت هذه الدراسة لمعالجة حالات الاصابة بعيوب ظهارية مستديمة وغير ماثلة للشفاء (NH-BEDs) في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق في نهاية عام 2021. نفذت هذه الدراسة على ثلاث يعانون من عيوب ظهارية مستديمة وغير ماثلة للشفاء (NH-BEDs) ناتجة عن التهاب القرنية Karatitis او التعرض لاضرار كيميائية Chemical njuries او اعتلال القرنية الفقاعي Bullous keratopathy، او الاصابة بقرحة مورينس (قرحة سعية مزمنة) Mooren,s ulcer. وتم تدوين المعلومات الشخصية والبيانات الخاصة بالوضع الصحي لكل مريض في سجل خاص مع التركيز على

الخطة العلاجية المطبقة Proposed treatment plan
تم تنفيذ العمل بالخطوات المدونة في الاجراء الخاص بمعالجة الاعتلالات العينية بطعوم الامنيوغرافت المعتمد من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي والموتق في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث تم انجاز عملية زرع طعوم الامنيوغرافت في مشفى العيون الجراحي في دمشق ضمن شروط نظيفة وعقيمة، بعد تزويد المريض بكافة المعلومات والحصول منه على تعهد شخصي بقبول المعالجة بهذه الطعوم. حيث استخدم في تنفيذ العمل الجراحي طعوم من الغشاء الامنيوسي الجاف والمعقم (الامنيوغرافت) من الحجم الصغير 2 X 2 سم المحضر في وحدة انتاج طعوم الغشاء الامنيوسي في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث تم زرع الامنيوغرافت بعدة طبقات بعد تجفيف قاعدة القرنية Corneal bed وازالة الحواف الظهارية الطرفية Peripheral rolled epithelial edges، ومن ثم لصق الغشاء الامنيوسي بخيوط جراحية ووضع عدسة لاصقة فوق الطعم، ومتابعة مراقبة ضغط العين لمدة 24 ساعة لضمان التصاق محكم لطعم الامنيوغرافت. ليم بعدها متابعة تحسن الحالة الصحية للمريض لمدة ثلاثة أشهر بعد انجاز العملية.

النتائج Results

الحالة الاولى Case 1

عرض الحالة Case presentation: الحالة الاولى المختبره هي لشاب بعمر 56 عام وصل الى قسم الاسعاف في المشفى وبعد اجراء الاختبارات السريرية اللازمة تبين انه مصاب بعيوب ظهارية مستديمة وغير متماثلة للشفاء في العين اليسرى، وسبق ان خضع Undergone لعمل جراحي معقد مع محفظة خلفية Posterior ونواة ساقطة Dropped nucleus في العين اليسرى. وبعد مرور شهر على

المؤشرات التالية قبل وبعد عملية زرع الغشاء الامنيوسي (الامنيوغرافت). 1. شدة الالم Pain 2. الاحتقان Congestion 3. افضل تصحيح في حدة الرؤية Best corrected visual acuity 4. حجم القرحة 5. عمق التجويف الامامي Anterior chamber depth 6. واستجابة الحجرة (التجويف) الامامية Anterior chamber reaction

تحضير الامنيوغرافت Amnio-Graft preparation

تم تحضير طعوم الغشاء الامنيوسي البشري الجاف والمعقم بالاشعة (الامنيوغرافت) في وحدة انتاج الطعوم في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، من غشاء امنيوسي خام تم قطفة من مشيمة ناتجة عن ولادة قيصرية في احدى المشافي العامة، بعد التحري عن الام المانح للتأكد من خلوها من اي محدد من محددات التبرع بشكل عام، وعدم اصابتها باي مرض من الامراض المعدية، او حملها لاي عامل يمكن ان يتسبب في نقل اي مرض من الامراض المعدية، المحتمل انتقالها مع الجزء المتبرع فيه، والمتمثلة في فيروس نقص المناعة (الايدز) Human immunodeficiency virus (HIV) وفيروسات التهاب الكبد Hepatitis viruses، وبعد الحصول على موافقة الام المانح للغشاء الامنيوسي الخام [17]. تم تحضير الامنيوغرافت وتغليفه ومن ثم تعقيمه بجرعة اشعاعية قدرها 35 كيلو غري من اشعة غاما الصادرة عن النظير المشع كوبالت 60 حسب معايير ضبط الجودة المعتمدة من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي، والموتقة في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية، ووفقا للطرائق المعيارية المدونة في المراجع العلمية، والمعتمدة من قبل المنظمات الدولية ذات الصلة، والمعمول فيها في الدول الاكثر تطورا [18,19].

المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية مع بقاء بعض الغباش (الضبابية) والندب والتي كانت موجودة اصلا قبل اجراء العمل الجراحي (الشكل 1). وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة اشهر لم يلاحظ وجود اي انتكاس في الحالة المرضية عند الشخص المصاب.

الحالة الثانية Case 2

عرض الحالة Case presentation: الحالة الثانية المختبره لرجل بالغ بعمر 46 عام، مشخص حالته الصحية مسبقا بانفصال الشبكية الناتج عن صدمه حادة في عينه اليسرى تعرض لها منذ شهرين، وسبق ان خضع لعمل جراحي لاستئصال الزجاجية الخلفية باستخدام زيت السيلكون. وبعد مرور عشرة ايام على العملية فقد اشتكى من وجود تمزق والم شديد في العين اليسرى.

تشخيص الحالة Diagnosis: بينت نتائج التشخيص والاختبارات السريرية المنفذه بعد يوم واحد على المراجعة ان افضل درجات الرؤية لديه حسب مقياس سنيلين هي من مرتبة OD= 0.7 وبمعيار اصبع اليد Counting OS= 1 m finger وبينت نتائج الفحص الطبي للعين اليسرى وجود ضرر في النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 6 X 2.5 mm، وبينت نتائج الاختبارات السريرية المنفذة ان ضغط العين Eye pressure testing طبيعي، وحتى هذه اللحظة فقد تم وصف الدمع الصناعي المتكرر والتوصية بترميم الجزء المصاب. وبعد مرور اربعة اسابيع على المعالجة لم يلاحظ اي تغير في العيب الظهاري.

التدخل Intervention: بعد فشل عمليات المعالجة السابقة فقد تم التوصية باستعمال طعوم الامنيوغرافت. حيث تم تنفيذ عملية زرع الطعم ضمن جو نظيف وعقيم بعد تجفيف قاعدة القرنية وازالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الغشاء الامنيوسي (الامنيوغرافت)

Posterior vitrectomy باستخدام زيت السيلكون Silicon oil . ذلك فقد خضع لعملية استئصال الزجاجية الخلفية

تشخيص الحالة Diagnosis: بينت نتائج التشخيص والاختبارات صوص السريرية المنفذ بعد يوم واحد على المراجعة ان افضل درجات الرؤية لديه حسب مقياس سنيلين Snellen scale هي من مرتبة OD= 0.15 و OS= 0.05 وبعد مرور شهر فقد تم ملاحظة انتشار في الضرر قي النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 5 X 3 mm، وحتى تاريخه كان مستمرا في استعمال قطرة الستيرويد Steroid drop التي قدمت له كوصفة طبية من قبل فريق العمل الطبي. وبعد هذا التاريخ فقد تم التوصية بالحد من استخدام هذه القطرة وتقليل كمية استخدامها. وتم وصف التدميع الصناعي Artificial tear بتواتر والتوصية بترميم الجزء المصاب. وبعد مرور اسبوعين على المعالجة لم يلاحظ اي تغير في العيب الظهاري. وتم اختبار امكانية استخدام ضماد لاصق مع مضاد حيوي موضعي ودموع صناعية لمدة اربعة اسابيع اخرى وجميع هذه المحاولات باءة بالفشل.

التدخل Intervention: عند هذه اللحظة الحرجة من التشخيص فقد تم اتخاذ القرار الاستشاري الطبي المتضمن ضرورة تنفيذ عملية زرع طعوم الغشاء الامنيوسي الجاف (الامنيوغرافت). على ان تتم عملية تطبيق الغشاء الامنيوسي بعدة طبقات. وتم فعلا تنفيذ العملية الموصى فيها بعد تجفيف قاعدة القرنية وازالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الغشاء الامنيوسي وتثبيتته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة

المخرجات Outcome: بعد مرور اسبوع على تطبيق طعم الامنيوغرافت فقد لوحظ وجود تحسن تمثل في تراجع في مساحة الضرر او العيب الظهاري، وبعد مرور ثلاثة اسابيع على زرع الطعم فقد تم ازالة الضماد والعدسة اللاصقة والقطب الجراحية. وبينت نتائج الاختبار بالمبة

الحالة الثالثة Case 3

عرض الحالة Case presentation: الحالة الثالثة

المختبره، هي لامرأة مسنة بعمر 75 عام، تشتكي من نقص تدريجي في الرؤية الثنائية، ومشخصة الحالة بانسداد وتعتيم تام في عدسة العين. وسبق ان اجري لها عملية جراحة السادة الاضافية المعقدة مع تمزق الكبسولة الخلفية وفقدان الجسم الزجاجي لعينها اليمنى. وتم اجراء عملية استئصال الزجاجية الامامية ولم يتم زرع عدسة داخل العين. وبعد مرور شهرين على ذلك فقد اجرت عمل جراحي ثاني وتم خلال العملية زرع عدسة داخل العين في الاخدود الهديي. وبعد مرور اسبوع راجعت المشفى بحالة اسعافية تشكو من الم شديد في عينها اليمنى.

تشخيص الحالة Diagnosis: بينت نتائج التشخيص

والاختبارات السريرية ان أفضل درجات الرؤية لديها بحركة يدوية Hand movement لتقدير الـ OD وحسب مقياس سنيلين هي من مرتبة OS= 0.1، وبينت نتائج الفحص الطبي وجود ضرر في النسيج الظهاري بمساحة قدرها حوالي 5.5 X 3.0 mm، وتم وصف الدمع الصناعي والمضادات الحيوية الموضعية والتي لم تحدث اي تغير او تحسن ملحوظ في حجم ضرر الظهارة حتى بعد مرور 3 اسابيع على المعالجة.

التدخل Intervention: كانت الخطوة التالية في

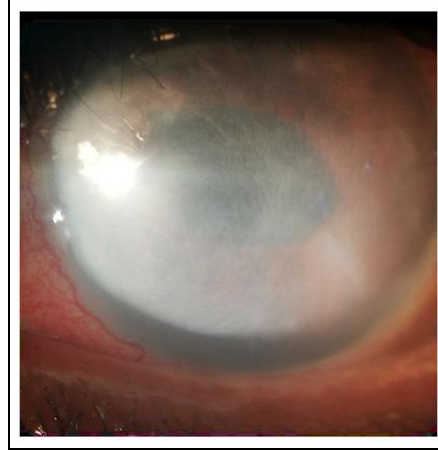
العلاج هو استخدام طعوم الغشاء الامنيوسي (الامينيوغرافت). حيث تم تنفيذ العملية ضمن جو نظيف وعقيم بعد تجفيف قاعدة القرنية وازالة الحواف الظهارية المحيطة بالمركز ومن ثم مد الامنييوغرافت وتثبيتته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة.

المخرجات Outcome: بعد مرور اسبوع على تطبيق

طعم الامنييوغرافت فقد لوحظ وجود تراجع في ابعاد المنطقة المصابة، وبعد مرور اربعة اسابيع على العلاج بالامينيوغرافت فقد تم ازالة الضماد والعدسة اللاصقة

وتثبيته بخياطة جراحية ومن ثم تدعيمه بعدسة لاصقة كما هو موضح في الشكل 2.

المخرجات Outcome: بعد مرور اسبوع على تطبيق طعم الغشاء الامنيوسي البشري الجاف (الامينيوغرافت) فقد لوحظ وجود تراجع في مساحة الجزء المتضرر من العين بنسبة تصل الى 50%، وبعد مرور اربعة اسابيع على العلاج بالامينيوغرافت فقد تم ازالة الضماد والعدسة اللاصقة والقطب الجراحية. وبينت نتائج الاختبار باللمبة المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية. وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود اي انتكاس في الحالة المرضية (الشكل 2)



الشكل (1). العيب الظهاري المستدام قبل زرع طعم الغشاء الامنيوسي الجاف (الامينيوغرافت).



الشكل (2). العيب الظهاري المستدام مغطى بعدة طبقات من طعم الغشاء الامنيوسي الجاف (الامينيوغرافت).

تعد المعالجة باستخدام طعوم الغشاء الامنيوسي البشري (HAM) Human Amniotic Membrane احد الخيارات المطروحة في معالجة هذه الحالات المرضية المعقدة والمستعصية على العلاج [21,22]. واعتمد استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي البشري عالميا كنموذج عياري ذهبي Gold Standard في معالجة الاعتلالات التي تصيب سطح العين بما في ذلك العيوب الظهارية المستديمة وغير المائلة للشفاء [23]. ومازال موضوع طعوم الغشاء الامنيوسي البشري موضع اهتمام عالمي في البحث والتطوير لاعتماد بروتوكولات علاجية جديدة يمكن بتطبيقها الحصول على نتائج استشفائية متميزة [24].

تم في هذه الدراسة عرض خبرتنا ونتائج تجاربنا المنفذة على ثلاث مرضى في وضع حرج من حيث الاصابة بالعيوب الظهارية المستديمة وغير المائلة للشفاء، وعدم استجابتهم للعلاج بالوسائل التقليدية المتبعة والتي طبقت عليهم لفترات زمنية طويلة. حيث كان خيارنا الاخير استعمال طعوم الامنيوغرافت المنتج في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية، وكان الهدف من كل ذلك هو اختبار فاعلية زرع هذه الطعوم في معالجة الحالات المدروسة والمستعصية على العلاج التقليدي. نفذت عمليات زرع الامنيوغرافت بعدة طبقات تماشيا مع درجة تطور الاصابة. حيث انجزت عملية الزرع حسب البروتوكول المطبق في المشفى والذي روعي في اعداده تطبيق اجراءات المعالجة الجيدة Good proccessory (GPP) practics، وتم اقراره من قبل اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي وتم اعتماده اصولا كوثيقة من وثائق نظام الجودة الموثقة اصولا في مكتب ضمان الجودة في هيئة الطاقة الذرية السورية. حيث بينت نتائج الاختبارات السريرية والمتابعة الدورية المنفذة في هذه الدراسة مثل الحالات المدروسة للشفاء بدلالة انحسار مساحة الجزء المصاب من الظهارة كنتيجة لاستخدام طعوم

والقطب الجراحية. وبينت نتائج الاختبار باللمبة المتوهجة الوصول الى درجة شفاء كامل في ظهارة القرنية. وخلال فترة المتابعة التي استمرت لمدة ثلاثة اشهر لم يلاحظ وجود اي انتكاس في الحالة المرضية.

المناقشة Discussion

ليس بخافي على احد ان معالجة بعض الاضرار والعيوب والاعتلالات العينية، ومنها على سبيل المثال لا الحصر الاصابة بالعيوب الظهارية المستديمة وغير المائلة للشفاء Non-healing, persistent epithelial defects (PEDs) والتي سبق وان خضع المصابين فيها الى عمليات جراحية متكررة خلال فترات زمنية طويلة من المسائل التي تحتاج الى التدخل الطبي العاجل لتجاوز التداعيات الصحية والنفسية التي يمكن ان يعاني منها الشخص المصاب والمجتمع الذي يعيش فيه [1]. يعتمد عدة اجراءات علاجية من اجل معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير المائلة للشفاء منها على سبيل المثال: التدميع الاصطناعي المتكرر Frequent artificial tears، وترقيع العين Eye Pach، ورفو الترص Tarsorrhaphy، وقطرات مصل العين الذاتي Autologous serum eye drops، والتطبيق النموذجي للخلايا الجذعية ذاتية المنشأ Autologous limbal stem cells [3]. ويتم تنفيذ هذه المعالجات المطبقة منفردة احيانا ومركبة احيانا اخرى، والذي يقود بدور الى الاستنتاج بعدم فاعلية هذه المعالجات، وعدم ناجعية استعمالها، والتداعيات السلبية التي يمكن ان تنتج عن المعالجات المستمرة لفترات زمنية طويلة الامد على الوضع النفسي والصحي للمريض ومايترتب على ذلك من تداعيات صحية على المريض والمتمثلة باحتمال انخفاض حدة البصر كنتيجة للمضاعفات الخطيرة التي ترافق هذا التدخل العلاجي المركب والمتكرر [5,20].

ظهارية مستديمة غير قابلة للشفاء [30]. وسجل نتائج ايجابية مماثلة في فاعلية وسلامة استعمال الغشاء الامنيوسي البشري في معالجة العيوب الظهارية المزمنة وغير القابلة للعلاج [3]. واشير في هذا السياق الى وجود نتائج ايجابية في امكانية استخدام تقانة البروكيرا ProKera في معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير القابلة للشفاء. حيث تبين انه وبعد مرور 25 يوم على العلاج فان 25% فقط من الحالات المعالجة بقي لديها اثار من عيوب الظهارة.

يعرف عن الغشاء الامنيوسي غناه بالمكونات والمركبات الخاصة والتميزة في فاعليتها كاللامينين Laminin والكولوجين Collagen التي تجعل منه منتجا مثاليا يمكن استعماله في معالجة الاضرار التي تصيب سطح العين [30]. وهذه التركيبة المميزة والخصائص الفريدة التي يتمتع فيها الغشاء الامنيوسي تجعل منه مادة اساسية ومصدرا جيدا يمكن استعماله في ترميم اي ضرر من خلال مساهمة في معالجة هذه الاضرار [31]. واحد اهم المزايا الخاصة التي يتمتع فيها الغشاء الامنيوسي والتي تحوله لان يكون مادة فعال في تحضير الطعوم هو تمتعه بالخصائص المضادة للالتهاب والتي تساهم بشكل كبير في خفض احتمال رفض الطعم من قبل جسم المستقبل [32]. ويعزز هذا الاستنتاج ماتم التوصيل اليه من نتائج لمعالجة ثلاث حالات بالغشاء الامنيوسي البشري [33] والتي كان من مخرجاتها الاستنتاج بان نسيج الغشاء الامنيوسي بما يحتويه من مركبات وما يتمتع فيه من خصائص كان محفز جدا لهجرة الخلايا الظهارية والتصاقها. وتعود قدرة الغشاء الامنيوسي على الاستشفاء الى البنية التشريحية لهذا الغشاء، والتي تحتوي على عدد كبير من الخلايا الظهارية والخلايا الجذعية وعلى خلايا التجمع الثانوي التي تشبه الى حد كبير بخصائصها الخلايا الجذعية، وتعود أيضاً الى المكونات الاساسية

الغشاء الامنيوسي البشري (الامنيوغرافت). وسجل تحسن في حدة الرويا عند المرضى الثلاث موضوع الدراسة، وتمائل جميعهم للشفاء الكامل مع مرور الزمن. وبمتابعة الوضع الصحي لكل منهم ولمدة وصلت حتى ثلاثة أشهر لم يلاحظ وجود اي انتكاس في الحالة الصحية لاي من المرضى الثلاث موضوع الدراسة. ولم يلاحظ وجود اي اثار جانبية لاستخدام الامنيوغرافت عند اي شخص منهم. ويمكن تفسير هذه النتائج باعتماد ما ورد من نتائج مدونة في دراسات حديثة اشير فيها الى احتواء الغشاء الامنيوسي البشري على عدة عوامل مشجعة على التئام الجروح الظهارية [25,26]. ويستشف مما ورد في الادبيات العلمية وجود ميزة فريدة للغشاء الامنيوسي البشري الممكن استخدامه في ترميم العين، تتمثل في احتوائه على كمية معقولة من مزيج من عوامل النمو Mixture of growth factors، وقدرته على تشكيل خلايا الظهارة Epithelialization، وخفض شدة الالتهاب Inflammation reduction، وامتلاكه خصائص مضادة لتولد الاوعية Anti-angiogenic properties، وفاعليته كمضاد ميكروبي Antimicrobial، ومضاد لتشكل الندب Antiscarring، وعدم امتلاكه لخصوصية الاستمناع Immunogenicity [27,28].

وبمقارنة النتائج التي تم التوصل اليها من قبل فريق عملنا فقد اشير في غير مكان وباعمال منفذه من قبل مجموعات عمل اخرى [29]. الى ان الظهارة عند مجموعة من المرضى المختبرين والذي وصل عددهم الى 21 مريض مصاب بالعيوب الظهارية المستديمة وغير المائلة للشفاء ممن تمت معالجتهم بالغشاء الامنيوسي البشري، قد مثل معظمهم للشفاء التام بعد مرور 6 أشهر على زرع الطعوم ومتابعة العلاج. وبالتوازي والتناغم مع ذلك فقد سجل نتائج ايجابية ايضا في قدرة الغشاء الامنيوسي البشري على معالجة الحالات المصابة بعيوب

الرطب بشكل مباشر دون معالجة. والحجة في ذلك سهولة استعمال الغشاء الامنيوسي بشكله الرطب، والاعتقاد بناجعية الاستشفاء كنتيجة لمحافظة على مجمل الخصائص التي يتمتع فيها، والتي كان يعتقد بانها ستخف أو تزول عند اجراء اي معالجة اضافية بما في ذلك التجفيف [36]. وفضلنا في هذه الدراسة استعمال الشكل الجاف من الغشاء الامنيوسي البشري الذي يسمح لنا اعادة الاختبارات العلاجية حتى بعد مرور 6 اشهر

اضافة لكل ذلك فان تجهيز طعوم الغشاء الامنيوسي بالشكل الجاف سيسمح باطالة فترة الصلاحية لتصل حتى 3 سنوات او اكثر وبالتالي يمكن استخدام كل جزء من اجزاء الغشاء وتقليل الفقد الذي ربما ينتج عن التحلل فيما لو تم تحضيره طازجا، وسهولة استعماله التي لا تحتاج الا الى اضافة بضع قطرات من محلول سكري او ملحي (سيروم) لتعاد اليه مرونته، ويصبح في القوام كما لو كان طازجا وطريا. يضاف الى كل ذلك محافظة الشكل الجاف من الغشاء الامنيوسي على مجمل الخصائص العلاجية التي يتمتع فيها شكله الطري، بدلالة النتائج التي تم التوصل اليها في هذه الدراسة وفي دراسات اخرى منفذة ضمن هذا المشروع الوطني. ونقطة قوة اخرى في هذه الدراسة هو كونها ركزت على حالات من العيوب الظهارية المستديمة وغير القابلة للشفاء والتي رغم العلاجات التقليدية التي استمرت لفترات زمنية طويلة فلم ينتج عنها الشفاء المرجو. وعليه يمكن ان يكون استعمال الامنيوغرافت في طب العيون اسلوبا وتقانة واعدة في معالجة الحالات المستعصية على العلاج.

نقاط الضعف في هذه الدراسة (المحددات)

Limitations of this study

باستعراض المعوقات التي واجهت هذه الدراسة، يجب عدم اغفال حقيقة ان هذا العمل هو وحيد ويفتقد الى التكرارية المطلوبة للوصول الى درجة اليقين والاعتماد. ونفذ هذا العمل خلال فترة زمنية محدودة وقصيرة نسبيا (3

الداخلة في تركيبه، والتي غالبيتها مواد فعالة Atcive materials وعوامل نمو Growth factors [34]. يحفظ الغشاء الامنيوسي بعدة طرق منها طريقة الحفظ والتخزين بالشكل الجاف. ومع ذلك لم يسجل اختلافات معنوية في تركيز عوامل النمو المختلفة بين الاغشية المحفوظة بالشكل الجاف Dried وتلك المحفوظة بالتبريد العميق Deep frozen لتبقى محافظة على شكلها الرطب (الطازج) Fresh. فالشكل الجاف للغشاء الامنيوسي البشري يمكن حفظه بدرجة حرارة الغرفة لفترات زمنية طويلة نسبيا [35]. وتجدر الاشارة الى ان الشكل الذي استخدم في هذه الدراسة هو الشكل الجاف من طعوم الغشاء الامنيوسي. والذي اعتمد كطريقة نموذجية في تحضير الامنيوغرافت.

عناصر القوة في هذه الدراسة Strength of the study

بعد البحث والتمحيص في المتاح من مصادر المعلومات العلمية المحلية والاقليمية، فقد تبين لنا ان مثل هذه الحالات لم يسبق وان درست محليا واقليميا، وربما تكون الحالات المختبرة في هذه الدراسة من الحالات الاولى من نوعها التي تختبر وتنتشر نتائجها محليا واقليميا في مجال استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي الجاف والمعقم بالاشعة في معالجة العيوب الظهارية المستديمة وغير الماثلة للشفاء. وعليه فان لهذه الدراسة مجموعة من عناصر القوة، لعل من اهمها هو وضع قطار البحث في هذا المضمار على المسار الصحيح، مستهلين العمل بالمباشرة في صياغة واعتماد بروتوكول وطني لاستعمال طعوم الامنيوغرافت كمنتج محلي في معالجة الاعتلالات العينية بشكل عام، ومعالجة العيوب والاعتلالات المستعصية على العلاج بشكل خاص. نقطة اخرى جديده بالاهتمام وهي تعزيز فكرة استعمال طعوم الغشاء الامنيوسي الجاف بدلا من الرطب، ويشار في الدراسات المنفذة سابقا الى ترجيح استعمال الغشاء الامنيوسي

ولفترات زمنية طويلة، فضلا عن ذلك نوصي باجراء المزيد من الدراسات في هذا المجال للوصول الى الاستنتاج الاكثر واقعية.

Authors contribution الورقة مساهمة معدي

د. رنا عمران مديرة مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في وضع فكرة العمل والعلاج بالامينوغرافت، والاشراف الطبي على مجمل الاعمال الطبية المنجزة في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق من البداية وحتى مراحل الشفاء الكامل، وتزويد الكادر الطبي العامل في المشفى شعبة بكافة الاستشارات الطبية واتخاذ القرار النهائي في العلاج والاستشفاء، واخراج النتائج بالاسلوب الذي عرضت فيه في هذه الورقة.

د. رزق الله رزق طبيب مختص في جراحة العيون في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في تنفيذ الاعمال الطبية المنجزة في مشفى جراحة العيون في مدينة دمشق، بما في ذلك الاختبارات السريرية، وتطبيق الامنيوغرافت، ومتابعة الحالة حتى الشفاء الكامل، وتوثيق نتائجها.

د. براء قبيسي طبيب مختص في جراحة العيون في مشفى العيون الجراحي في مدينة دمشق: المساهمة في تنفيذ الاعمال الطبية المنجزة في مشفى جراحة العيون في مدينة دمشق، بما في ذلك الاختبارات السريرية، وتطبيق الامنيوغرافت، ومتابعة الحالة حتى الشفاء الكامل، وتوثيق نتائجها.

ب. محمد عمار العدوي عضو هيئة فنية في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية: المساهمة في تحضير طعوم الغشاء الامنيوسي الجاف والمعقم بالاشعة (الامينوغرافت) في وحدة انتاج الطعوم المعدة لذلك وفقا لمتطلبات ضبط الجودة المعتمدة وتزويد مجموعة العمل بما تحتاجه من هذه الطعوم.

اشهر)، وتفتقد الى المتابعة للتحقق من ديمومة التأثير وناجعية العلاج. ولسوء الحظ فان المتابعة لفترات زمنية اطول لم يكن بالامر متاح. وغياب حالة الشاهد غير المعالج بطعوم الغشاء الامنيوسي هو احد النقاط التي يمكن تسجيلها على هذا العمل. وهذه السلبية بعلاقة مع القيم الاخلاقية التي لاتسمح للطبيب المعالج بترك اي حالة اصابه بدون علاج كشاهد. ومع ذلك فان مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها باستعمال الامنيوغرافت كتقانة جديدة مع النتائج التي تم الحصول عليها باستعمال تقانات تقليدية هو احد التحديات التي واجهت العمل والذي ربما يعود الى عدم وجود طريقة علاج عيارية يمكن اعتمادها في المقارنة، والى صغر حجم العينة المدروسة. وعليه فهناك حاجة لمزيد من الدراسات التي يفترض ان يتم تنفيذها في هذا المجال قبل التوصية باعتماد هذا النموذج الجديد في المعالجة وطنيا. باعتبار ان الدراسات التي تجرى على عينات كبيرة ولفترات زمنية طويلة هي الدراسات التي يمكن الاستفادة من نتائجها في اعتماد الطرق الجديدة في المعالجة.

الاستنتاجات Conclusion

بنتائج هذا العمل المتواضع، الذي يعتبر باكورة لمخرجات مشروع وطني معتمد، ومقدم له كل الرعاية والدعم من اعلى الجهات الوصائية. يمكن تثبيت بعض الاستنتاجات العامة والاولوية والتي يمكن الاسترشاد فيها وتعزيزها بتنفيذ المزيد من مثل هذه الاعمال العلمية والطبية التي ربما تكون واعدة ومبشرة في مجال تطوير وتحسين الوضع الصحي وصولا الى سوية يمكن الركون اليها في الامن الصحي والتي من اهمها: امكانية اعتماد زراعات طعوم الغشاء الامنيوسي البشري الجاف (الامينوغرافت) كتقانة حديثة يمكن استخدامها في معالجة الاضطرابات العينية المستديمة وغير القابلة للشفاء. والتي لم تمثل للشفاء حتى بعد علاجها بالوسائل التقليدية المتبعة

Acknowledgements كلمة شكر

يتقدم المؤلفين بالشكر الجزيل للسيد الدكتور المدير العام لهيئة الطاقة الذرية السورية، ولفريق العمل في مشفى الهيون الجراحي في مدينة دمشق، ولفريق العمل في وحدة انتاج الامنيوغرافت في قسم تكنولوجيا الاشعاع في هيئة الطاقة الذرية السورية على الجهد المبذول لانجاز هذا العمل.

د. محفوظ البشير (قسم تكنولوجيا الاشعاع - هيئة الطاقة الذرية السورية): المساهمة في وضع فكرة العمل من حيث تحضير الطعوم وادخالها في التطبيق، وصياغة واعداد مشروع البحث، وكتابة الورقة العلمية واعدادها حسب شروط النشر في المجلة، ومتابعة اجرائات نشر الورقة. باعتباره المشارك الاول في البحث الذي اشتمت منه هذه الورقة، ورئيس اللجنة الوطنية لطعوم الغشاء الامنيوسي.

References

1. Hristova R, Zdravkov Y, Markov G, et al. 2021. Comparison of amniotic membrane transplantation with and without cultured limbal epithelium for persistent corneal ulcers, *Biotechnology & Biotechnological Equipment.*, 35(1): 739-745, DOI: 10.1080/13102818.2021.1924860.
2. Brzheskaya IV, Somov EE. 2018. Clinical and etiological characteristic, classification and treatment of aseptic corneal ulcers. *Ophthalmology Journal.* 11(1): 25-33. doi: 10.17816/OV11125-33.
3. Mimouni M, Trinh T, Sorkin N, Cohen E, Santaella G, Rootman D.S., Slomovic A.R., Chan C.C. 2021. Sutureless dehydrated amniotic membrane for persistent epithelial defects. *European Journal of Ophthalmology.*, 00(0): 1-5. DOI: 10.1177/11206721211011354.
4. Wirostko B, Rafii M, Sullivan DA, Morelli J, Ding J. 2015. Novel therapy to treat corneal epithelial defects: a hypothesis with growth hormone. *Ocul Surf.*, 13(3):204-12 e1. doi: 10.1016/j.jtos.2014.12.005.
5. Maqsood S, Elsayh K, Dhillon N, Soliman S, Laginaf M, Lodhia V, Lake D, Hamada S, Elalfy M. 2021. Management of Persistent Corneal Epithelial Defects with Human Amniotic Membrane-derived Dry Matrix. *Clinical Ophthalmology.*, 15 2231-2238.
6. Ljubimov AV and Saghezadeh M. 2015. Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res.*, 49: 17-45.
7. Katzman LR, Jeng BH. 2014. Management strategies for persistent epithelial defects of the cornea. *Saudi J Ophthalmol.*, 28(3): 168-172.
8. Hazarika M, Prajna NV, Senthilkumari S. 2021. Drug reservoir function of voriconazole impregnated human amniotic membrane: An in vitro study. *Indian J Ophthalmol.*, 69: 1068-72.
9. Soltan Dallal MM, Nikkhahi F, Imeni SM, Molaei S, Hosseini SK, Kalafi Z, Yazdi SS, Mirzaei HMA. 2021. Amniotic Membrane Transplantation for Persistent Epithelial Defects and Ulceration due to Pseudomonas Keratitis in a Rabbit Model. *J Ophthalmic Vis Res.*, 16:552-557.
10. Hofmann N, Salz AK, Kleinhoff, K, et al. AmnioClip-Plus as Sutureless Alternative to Amniotic Membrane Transplantation to Improve Healing of Ocular Surface Disorders. *Transplantation* 2021; 2: 425-432. <https://doi.org/10.3390/transplantation2040040>
11. Gheorghe A, Pop M, Burcea M, Serban, M. 2016. New clinical application of amniotic membrane transplant for ocular surface disease. *Journal of Medicine and life.*, 9 (2): 177-179.
12. Sacchetti M, Komaiha C, Bruscolini A, Albanese G.M, Marengo M, Gisoldi R.A.M.C, Pocobelli, A., Lambiase, A.

2022. Long-term clinical outcome and satisfaction survey in patients with neurotrophic keratopathy after treatment with cenegermin eye drops or amniotic membrane transplantation. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology.*, 260:917–925 <https://doi.org/10.1007/s00417-021-05431-6>.
13. Remigio L, Leonidas T. 2019. Accelerated collagen cross-linking in the management of advanced *Acanthamoeba* keratitis. *J Arq Bras Oftalmol.*, 8:103–106.
14. Tonti E. 2019. Different graft thicknesses after Descemet stripping endothelial keratoplasty for bullous keratopathy in the two eyes of the same patient. *Int Med Case Rep J.*, 55–59.
15. Mifflin MD, Mortensen XM. 2018. Intraoperative optical pachymetry in photorefractive keratectomy. *J Cart Refract Surg.*, 45:495–500.
16. Baylis O, Figueiredo F, Henein C, Lako M, Ahmad S. 2011. 13 years of cultured limbal epithelial cell therapy: A review of the outcomes. *J Cell Biochem.* 112(4): 993–1002
17. Herndon DN, Branski L.K. 2017. Contemporary Methods Allowing for Safe and Convenient Use of Amniotic Membrane as a Biologic Wound Dressing for Burns. *Ann Plast Surg.*, 78: S9–S10.
18. IAEA. Code of Practice for the Radiation Sterilization of Tissue Allografts. IAEA, (2002) Vienna.
19. IAEA. Radiation Sterilization of Tissue Allografts: Requirements for Validation and Routine Control - A Code of Practice. International Atomic Energy Agency: (2007) Vienna, Austria, 2007.
20. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, Moshirfar M. 2019. Persistent Corneal Epithelial Defects: A Review Article. *Med Hypothesis Discov Innov Ophthalmol.* Autumn; 8(3): 163-176.
21. Korittum AS, Kassem MM, Adel A, Gaith AA, El-Habashi N. 2019. Effect of Human Amniotic Membrane Transplantation in Reconstruction of Canine Corneal Wound. *Alex. J Vet Sci.*, 60 (2).
22. Monteiro BG, Loureiro RR, Cristovam PC, Covre JL, Gomes JÁ, Kerkis I. 2019. Amniotic membrane as a biological scaffold for dental pulp stem cell transplantation in ocular surface reconstruction. *Arq Bras Oftalmol.*, 82 (1): 32-37.
23. Schuerch K, Baeriswyl A, Frueh BE, Tappeiner, C. 2020. Efficacy of amniotic membrane transplantation for the treatment of corneal ulcers. *Cornea.*, 39(4):479–483.
24. Fernandez-Buenaga R, Aiello F, Zaher SS, Grixti A, Ahmad S. 2018. Twenty years of limbal epithelial therapy: an update on managing limbal stem cell deficiency. *BMJ open ophthalmol.*, 3(1): Doi: 10:1136/bmjophth-2018-000164.
25. Chen HJ, Pires RTF, Tseng SCG. 2000. Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol.*, 84: 826–833.
26. Msika LC, Bourges JL. 2021. Amniotic Membrane Transplantation after Phototherapeutic Keratectomy: Postoperative Pain, Epithelial Healing and Visual Recovery Outcomes. *J Surg* 6: 1431 DOI: 10.29011/2575-9760.001431.
27. Chen Z, Lao HY, Liang L. 2021. Update on the application of amniotic membrane in immune-related ocular surface diseases. *Taiwan J Ophthalmol.* 11(2): 132–140. doi: 10.4103/tjo.tjo_16_21
28. Železnik RT, Tina S, Marjanca S, Erdani K. 2021. Antimicrobial activity of human fetal membranes: from biological function to clinical use. *Front Bioeng Biotechnol.*, 9:1–16.
29. Karahan M, Demirtas AA, Erdem S, et al. Analysis of patients undergoing amniotic membrane transplantation at a

- tertiary referral hospital. *Eur Eye Res.* 2021; 1: 64-68.
30. Saleem T, Bokhari SA. 2022. Outcome of Amniotic Membrane Transplant in Persistent Corneal Epithelial Defects. *Pak J Ophthalmol.*, 38 (1): 52-57. Doi: 10.36351/pjo.v38i1.1340.
31. Thiex NW, Chames MC, Loch-Caruso RK. 2009. Tissue-specific cytokine release from human extra-placental membranes stimulated by lipopolysaccharide in a two-compartment tissue culture system. *Reprod Biol Endocrinol.*, 7:117. doi:10.1186/1477-7827-7-117
32. Ramachandran, C., Deshpande, P., Ortega, I., Sefat, F., McKean, R., Srivastava, M., MacNeil, S., Base, S., Sangwan, V.S. 2021. Proof-of- concept study of electrospun PLGA membrane in the treatment of limbal stem cell deficiency. *BMJ Open Ophthalmology*, 6: e000762. doi:10.1136/bmjophth-2021-000762.
33. Gheorghe A, Rosoga AT, Mrini F, et al.2018. Various therapies for ocular surface diseases. *Rom J Ophthalmol.*, 62 (1): 83.
34. Ultheim T.P, Utheim YS, Salvanos P, Jackson C, Schrader S, Greerling G, Sehic A. (2018). Altered versus unaltered amniotic membrane as a substrate for limbal epithelial cells translational medicine. 7: 415-427. www.StemCellsTM.com.
35. Lacorzana J. 2020. Amniotic membrane, clinical applications and tissue engineering. Review of its ophthalmic use. *Arch Soc Esp Oftalmol (Engl Ed).*, 95:15–23.
36. Al-Yousuf N, Alsetri H, Farid E, Georg SM.2022.Amniotic Membrane Transplantation an Experience of a Locally Prepared Tissue. *Transplant Research and Risk Management.*14: 7–19.